

八角茴香及其易混品的 DNA 条形码鉴别

郑梦迪, 张琪, 张寒, 汪兴军

(西安医学院 药学院, 陕西 西安 710021)

摘要: 该研究利用 ITS2、psbA-trnH 和 *matK* 序列对八角茴香及其易混品进行鉴别。通过提取八角茴香药材的基原植物八角茴香的总 DNA, PCR 扩增序列并进行测序; 另外从 GenBank 数据库中下载其常见易混品共 8 个物种 80 条序列。采用隐马可夫模型 (Hidden Markov Model, HMM) 注释获得标准的 ITS2 序列; 根据 GenBank 数据库中同属物种 psbA-trnH 和 *matK* 的注释, 获得标准的 psbA-trnH 和 *matK* 片段。采用 MEGA 软件统计碱基 G、C 含量、序列长度等序列特征信息, 计算种内、种间 K2P 遗传距离, 构建 NJ 进化树。同时利用 ITS2 Database 预测各物种的 ITS2 二级结构, 并利用 4sale 软件比对一级结构和二级结构的联合矩阵, 最终采用 ProfDist 软件基于距离法构建 PNJ 进化树。结果表明, 八角茴香与其易混品的种间遗传距离明显大于其种内遗传距离; 进化树显示八角茴香独立分支; 各物种的 ITS2 二级结构各不相同; PNJ 树比 NJ 树分辨率更高。虽然 ITS2、psbA-trnH 和 *matK* 序列均可以准确鉴别八角茴香与其易混品, 但是在同属物种间的区分上, *matK* 序列并不占优势。因此, 该研究建立出以 ITS2 和 psbA-trnH 为主、*matK* 为辅的分子鉴定方法。

关键词: 八角茴香; DNA 条形码; 分子鉴定; 药食同源; 易混品

Identification of *Illicium verum* and Its Adulterants by DNA Barcoding

ZHENG Mengdi, ZHANG Qi, ZHANG Han, WANG Xingjun

(School of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, Shaanxi, China)

Abstract: The ITS2, psbA-trnH, and *matK* sequences were used to identify *Illicium verum* and its adulterants. The total DNA was extracted from *Illicium verum*, the original plant of *Illicium verum*, for PCR amplification and sequencing. In addition, 80 sequences of 8 species of adulterants were downloaded from GenBank. The standard ITS2 sequence was obtained by Hidden Markov Model (HMM) annotation. According to the annotations of the same species in GenBank, standard psbA-trnH and *matK* sequences were obtained. MEGA was used to calculate the G, C content, sequence lengths, and intraspecific and interspecific genetic distances and build the neighbor-joining (NJ) tree. The secondary structure of ITS2 was predicted by ITS2 Database and 4Sale was used to align the sequences of both primary and secondary structures. Finally, ProfDist was used to build a profile neighbor-joining (PNJ) tree based on genetic distances. The results showed that the interspecific genetic distance between *Illicium verum* and its adulterants was significantly longer than the intraspecific genetic distance. The phylogenetic tree showed that *Illicium verum* branched independently. The ITS2 secondary structure varied between species. The PNJ tree had higher resolution than the NJ tree. Although ITS2, psbA-trnH, and *matK* sequences can accurately distinguish *Illicium verum* from its adulterants, the *matK* sequence did not present an advantage in distinguishing species of the same genus. Therefore, the DNA barcoding based mainly on ITS2 and psbA-trnH and supplemented by *matK* was recommended for the identification of *Illicium verum*.

Key words: *Illicium verum*; DNA barcoding; molecular identification; homology of medicine and food; adulterants

引文格式:

郑梦迪, 张琪, 张寒, 等. 八角茴香及其易混品的 DNA 条形码鉴别[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(23): 158-165.

ZHENG Mengdi, ZHANG Qi, ZHANG Han, et al. Identification of *Illicium verum* and Its Adulterants by DNA Barcoding [J]. Food Research and Development, 2024, 45(23): 158-165.

基金项目: 陕西省自然科学基金研究计划项目(2021JQ-782); 陕西省教育厅一般专项科学研究计划项目(21JK0900); 西安医学院 2022 年度科研能力提升计划项目(2022NLTS084)

作者简介: 郑梦迪(1988—), 女(汉), 副教授, 博士, 研究方向: 药用植物。

八角茴香,又称八角、大料、大茴香和五香八角等^[1]。八角茴香之名始见于南宋杨士瀛的《仁斋直指方论》^[2],八角之名出自清赵其光的《本草求原》^[3],大茴香出自南宋朱佐的《类编朱氏集验方》^[4]。大料是北方民间对八角茴香的习称,五香八角是南方民间对八角茴香的习称。《中华人民共和国药典》2020 版规定,药材八角茴香 *Illicium verum* 来源于木兰科植物八角茴香(*Illicium verum* Hook. f.)的干燥成熟果实,具有温阳散寒、理气止痛的作用,用于寒疝腹痛、肾虚腰痛、胃寒呕吐、脘腹冷痛^[5]。八角茴香除了作为日常调料和药材,还作为经济树种,其果皮、种子、叶都含芳香油,称八角茴香油,是制造化妆品、啤酒和食品工业的重要原料。八角茴香木材可供细木工、家具、箱板等用材^[6-7]。八角茴香还可作为牙膏等物品中的香料,还可用于制药行业,是抗癌药“派路克萨龙”、抗禽流感药“达菲”、雌性激素“己烯雌酚”的主要合成原料^[7-8]。八角茴香除国内需用外,也是重要的出口物资,我国八角茴香占世界市场的 85% 以上,是唯一一个能大规模生产和提供八角茴香的国家^[8]。因此,八角茴香的发展前景广阔,开发潜力较大。

八角茴香的常见易混品有红茴香(*Illicium henryi* Diels.)、红毒茴(*Illicium lanceolatum* A. C. Smith)、野八角(*Illicium simonsii* Maxim.)、大八角(*Illicium majus* Hook. f. et Thoms.)、厚皮香八角(*Illicium ternstroemioides* A. C. Smith)、红花八角(*Illicium dunnianum* Tutch.)、台湾八角(*Illicium arborescens* Hayata)和茴香(*F. vulgare* Mill.)^[5],且常见易混品大多有毒,特别是红茴香有剧毒。我国

古代本草所称的“莽草”是八角茴香最常见的易混品,实则为红茴香或红毒茴^[6]。

分子水平鉴定物种已广泛应用, *matK*、*ITS2*、*psbA-trnH* 等分子标记在植物上的应用范围不断扩大^[9-12]。与 *ITS2* 核苷酸序列相比,其二级结构有助于提高系统发育的识别能力^[13-14]。补偿性碱基替换(compensatory base changes, CBC)分析是利用二级结构中配对碱基的变化来分析遗传距离很近物种的差异,在昆虫及植物上都能很好地区分种属关系^[15-16],有时也会出现半补偿性碱基替换(hemi-compensatory base change, hCBC),即配对的双方仅一方发生突变,从而使得该位点处于一种配对中间体的状态^[17]。这使 *ITS2* 二级结构在物种鉴别上的应用越来越受到人们的关注。

本研究利用 *ITS2*、*psbA-trnH* 和 *matK* 序列从遗传距离、二级结构、NJ(neighbor joining)树和 PNJ(profile neighbor joining)树等不同层次对八角茴香及其易混品进行鉴别,以期为八角茴香的安全提供有效保障。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究材料包含八角茴香、红茴香、红毒茴、野八角、大八角、厚皮香八角、红花八角、台湾八角和茴香共 9 个物种 89 条序列(*ITS2*: 32 条, *psbA-trnH*: 27 条, *matK*: 30 条)。八角茴香药材的基原植物八角茴香:来源于广西玉林,详细信息见表 1。所有研究材料经西安医学院药学院生药教研室汪兴军老师鉴定,并保存于-80℃冰箱。

表 1 八角茴香及其易混品的信息
Table 1 Sample information of *Illicium verum* and its adulterants

分子标记	物种名	拉丁学名	来源	编号/序列号
ITS2	八角茴香	<i>I. verum</i>	广西玉林	BJHX1、BJHX2、BJHX3
	红茴香	<i>I. henryi</i>	GenBank	KP689715.1、KP689714.1、KP689713.1、AF163725.1、JQ003481.1
	红毒茴	<i>I. lanceolatum</i>	GenBank	KF022354.1、KF022353.1、AF163726.1、KP689716.1
	野八角	<i>I. simonsii</i>	GenBank	KP689736.1、KP689735.1
	大八角	<i>I. majus</i>	GenBank	KP689719.1、KP689718.1、KP689717.1
	厚皮香八角	<i>I. ternstroemioides</i>	GenBank	KY523599.1、KY523598.1、KP689727.1、KP689726.1
	红花八角	<i>I. dunnianum</i>	GenBank	AF163731.1、GU354243.1
	台湾八角	<i>I. arborescens</i>	GenBank	KP689725.1、AF163723.1、OK173852.1、OK173850.1、OK173844.1
	茴香	<i>F. vulgare</i>	GenBank	HQ377213.1、HQ377212.1、HQ377211.1、HQ377210.1
psbA-trnH	八角茴香	<i>I. verum</i>	广西玉林	BJHX1、BJHX2、BJHX3
	红茴香	<i>I. henryi</i>	GenBank	KP690043.1、KP690041.1、KP690040.1、KP690039.1
	红毒茴	<i>I. lanceolatum</i>	GenBank	JQ003534.1、KP690044.1
	野八角	<i>I. simonsii</i>	GenBank	KP690066.1、KP690065.1、KP690064.1、KP690063.1
	大八角	<i>I. majus</i>	GenBank	KP690047.1、KP690046.1、KP690045.1
	厚皮香八角	<i>I. ternstroemioides</i>	GenBank	KP690056.1、KP690055.1、KP690054.1
	红花八角	<i>I. dunnianum</i>	GenBank	JQ003545.1、JQ003544.1
	台湾八角	<i>I. arborescens</i>	GenBank	KJ687360.1、KP690053.1、KP690052.1
	茴香	<i>F. vulgare</i>	GenBank	MG947083.1、GQ435314.1、GQ435313.1

续表 1 八角茴香及其易混品的信息
Continue table 1 Sample information of *Illicium verum* and its adulterants

分子标记	物种名	拉丁学名	来源	编号/序列号
matK	八角茴香	<i>I. verum</i>	广西玉林	BJHX1、BJHX2、BJHX3
	红茴香	<i>I. henryi</i>	GenBank	MH659404.1、MH659314.1、KP689824.1、KP689823.1、KP689822.1
	红毒茴	<i>I. lanceolatum</i>	GenBank	KF022420.1、KF022419.1、HQ427283.1、KP689825.1
	野八角	<i>I. simonsii</i>	GenBank	KP689847.1、KP689846.1、KP689845.1、KP689844.1
	大八角	<i>I. majus</i>	GenBank	KP689828.1、KP689827.1、KP689826.1
	厚皮香八角	<i>I. ternstroemioides</i>	GenBank	KP689837.1、KP689836.1、KP689835.1
	红花八角	<i>I. dunnianum</i>	GenBank	JQ003505.1、JQ003504.1
	台湾八角	<i>I. arborescens</i>	GenBank	KP689834.1、KP689833.1
	茴香	<i>F. vulgare</i>	GenBank	KP149520.1、JN894477.1、JN894262.1、JN894229.1

1.2 方法

1.2.1 植物样本准备与 DNA 提取

将试验用具进行高压灭菌,用 75% 乙醇擦拭新鲜植物材料的叶片表面。取约 150 mg 材料于 1.5 mL 灭菌离心管中,迅速放入液氮中冷冻。在液氮环境下,用灭菌小木棒研磨植物材料至粉末状。按照 DP320 植物基因组 DNA 提取试剂盒说明书操作提取八角茴香

植物的总 DNA。

1.2.2 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增、测序和校正

对八角茴香植物的 ITS2、psbA-trnH 和 matK 序列进行 PCR 扩增,序列扩增的 PCR 条件见表 2。PCR 产物由北京擎科泽西生物科技有限公司完成 Sanger 测序,每个样本重复 3 次测序。通过 Contig Express 软件

表 2 引物序列及相应 PCR 扩增程序
Table 2 Primer sequences and corresponding PCR amplification procedures

PCR 引物(10 μmol/L)	PCR 反应体系(25 μL)	PCR 反应程序
ITS2 F:5'-ATCGATACTTGGT GTGAAT-3' ITS2 R:5'-GACGCTTCTCCAGACT ACAAT-3'	DNA 模板 1 μL、引物 F (10 μmol/L) 1 μL、引物 R (10 μmol/L) 1 μL、DNA 聚合 酶 2×Taqmix 12.5 μL、ddH ₂ O 补充至 25 μL	94 °C 5 min、94 °C 30 s、56 °C 30 s、72 °C 45 s、循环 40 次、72 °C 2 min、16 °C 59 min
psbA-trnH F:5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC-3' psbA-trnH R:5'-CGCGCATGCTGGAT-TCACAATCC -3'		94 °C 5 min、94 °C 1 min、55 °C 1 min、72 °C 1.5 min、 循环 35 次、72 °C 5 min、16 °C 59 min
matK F:5'-CGTACAGTACTTTTGTGTTTAC-3' matK R:5'-ACCCAGTCCATCTGGAAATC-3'		94 °C 5 min、94 °C 30 s、56 °C 30 s、72 °C 1 min、循环 40 次、72 °C 5 min、16 °C 59 min

去除每条序列的两端引物区,检查测序峰图并进行人工校正,最终得到全部序列。

1.2.3 序列获得、筛选和比对

从美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI) Nucleotide 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>)中下载 8 种分类群的 ITS2、psbA-trnH 和 matK 序列,利用 BLAST 功能筛选剔除可疑序列,共获得 80 条序列。检查测序结果的峰图,去除两端低质量部分,并对剩余部分进行质量评估。将下载所得序列连同测序序列在 ITS2 Database(<http://its2.bioapps.biozentrum.uni-wuerzburg.de/>)中基于隐马尔可夫模型(Hidden Markov model, HMM)对数据进行分析,去除序列两端的 5.8S 和 28S 基因区,获得标准的 ITS2 基因间隔区序列。另外,将下载所得序列连同测序序列根据 GenBank 数据库中同属物种 psbA-trnH 的注释,去除序列两端的 psbA 和 trnH 基因,获得标准的 psbA-trnH 基因间隔区。同时,将下载所得序列连同测序序列根据 GenBank 数据库中同科物种 matK 的注释,获得标准的 matK 片段。利用

Clustal Omega(<http://www.clustal.org/omega/>)在线软件对所有 ITS2、psbA-trnH 和 matK 序列进行比对校正。

1.2.4 序列分析、遗传距离计算及 NJ 进化树构建

采用 MEGA 11 软件分析比对所得序列,统计碱基 G、C 含量、序列长度、变异位点等序列特征信息。基于 K2P(Kimura 2-Parameter)模型计算各物种的种内、种间遗传距离,构建 NJ 系统发育树,Bootstrap 1 000 次重复检验分支系统发育的可靠性。

1.2.5 ITS2 二级结构预测及 PNJ 系统发育树构建

利用 ITS2 Database 预测各物种的 ITS2 二级结构,获得一级结构和二级结构的联合矩阵,将所有研究材料的联合矩阵输入 4Sale 1.7.1 软件中进行比对,将比对好的结果导入 ProfDist 0.9.9 软件基于距离法构建 PNJ 系统发育树,Bootstrap 1 000 次重复检验分支系统发育的可靠性。

2 结果与分析

2.1 序列特征及差异分析

将测序获得的 ITS2、psbA-trnH 和 matK 序列在

NCBI 数据库中进行 BLAST, 相似性最高的序列对应的物种为八角茴香 *Illicium verum* Hook. f. 八角茴香及其易混品的 ITS2、psbA-trnH 和 *matK* 序列差异分析见表 3。

表 3 八角茴香及其易混品的 ITS2、psbA-trnH 和 *matK* 序列差异分析

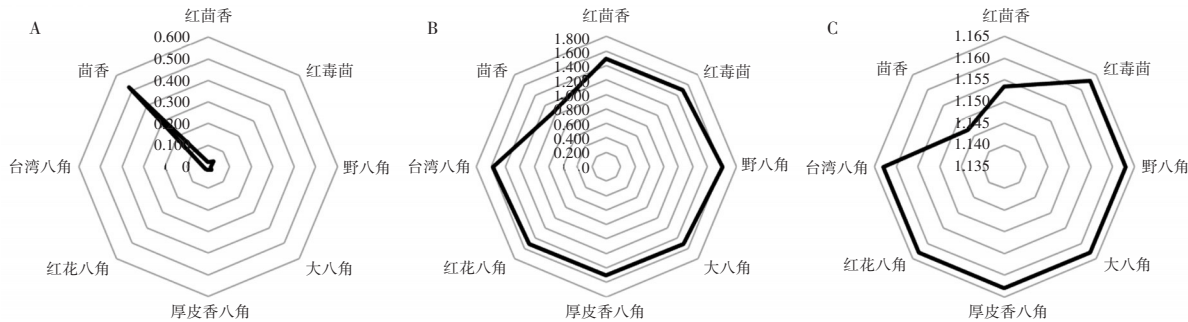
Table 3 Comparison on ITS2, psbA-trnH, and *matK* sequences of *Illicium verum* and its adulterants

类目	ITS2	psbA-trnH	<i>matK</i>
对齐长度/bp	241	407	883
所有分类群中的保守位点数量(百分比)	148 (61.41%)	144 (35.38%)	417 (47.23%)
所有分类群中的变异位点数量(百分比)	93 (38.59%)	263 (64.62%)	466 (52.77%)
所有分类群中的简约信息位点数量(百分比)	93 (38.59%)	263 (64.62%)	466 (52.77%)
所有分类群中的自裔位点数量(百分比)	0	0	0

由表 3 可知,不同物种的 ITS2 序列长度在 210~228 bp 之间,其中厚皮香八角和八角茴香分别为最短和最长;红茴香、红毒茴、大八角、台湾八角的序列长度同为 225 bp。多重比对后序列长度为 241 bp。除厚皮香八角外,八角茴香与其易混品的序列长度非常相近。序列的碱基 G、C 含量范围为 54.63%~60.95%,保守位点多集中在 135 bp 处,变异位点和简约信息位点多集中在 90 bp 处,自裔位点个数为 0。变异位点和简约信息位点均为 93 个。各物种的 psbA-trnH 序列的平均长度为 367 bp,比对后长度为 407 bp。平均碱基 G、C 含量为 31.44%。所有物种的 *matK* 序列平均长度为 777 bp,八角茴香的 *matK* 序列长度最短 731 bp,序列碱基 G、C 含量多集中在 36% 左右。

2.2 遗传距离分析

八角茴香与其易混品的遗传距离见图 1。由图 1 可知,各分类群的种内遗传距离都为 0。八角茴香与野八角的种间遗传距离为 0.01,小于八角



A. 基于 ITS2; B. psbA-trnH; C. *matK*。

图 1 八角茴香与其易混品的遗传距离分别

Fig.1 Genetic distances of *Illicium verum* and its adulterants

茴香与其他易混品种;野八角分别与厚皮香八角和红花八角、台湾八角分别与厚皮香八角和红花八角的 ITS2 种间遗传距离均为 0.005;同属物种的 ITS2 种间遗传距离比较相近。其次,八角茴香与其易混品种的 psbA-trnH 种间遗传距离普遍大于 ITS2 的种间遗传距离,其中八角茴香与茴香的种间 psbA-trnH 遗传距离最小为 1.048。另外,八角茴香与其易混品种的 *matK* 种间遗传距离也普遍较大,种间最小仍为与茴香的遗传距离 1.147,八角茴香与其同属易混品的 *matK* 种间遗传距离集中在 1.163,但其他同属物种的种间距离集中在 0.001。因此,3 种 DNA 条形码均可将八角茴香与其易混品从遗传距离水平上区分开。

2.3 聚类分析

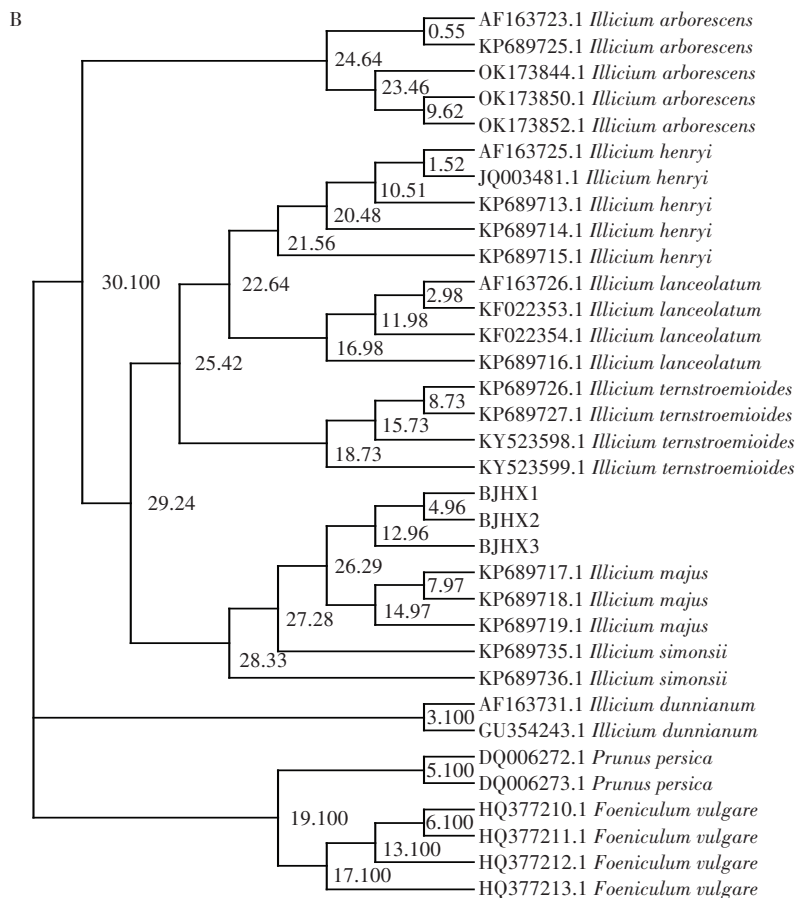
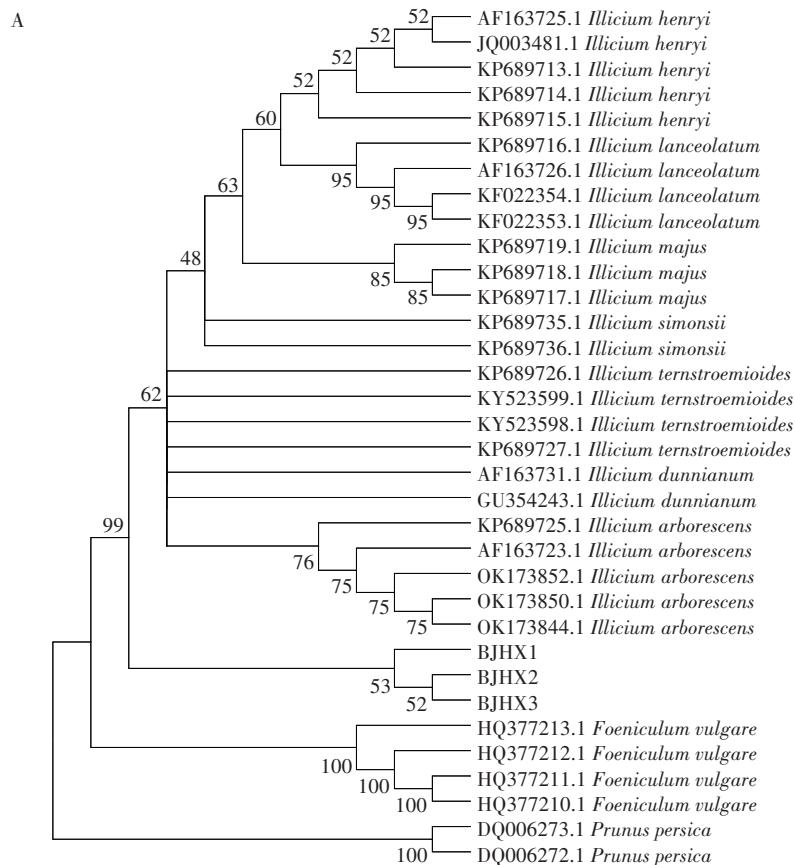
基于 ITS2 序列(一级结构)和 ITS2 一级结构与二级结构联合矩阵,分别构建 NJ 和 PNJ 系统发育树结果见图 2。

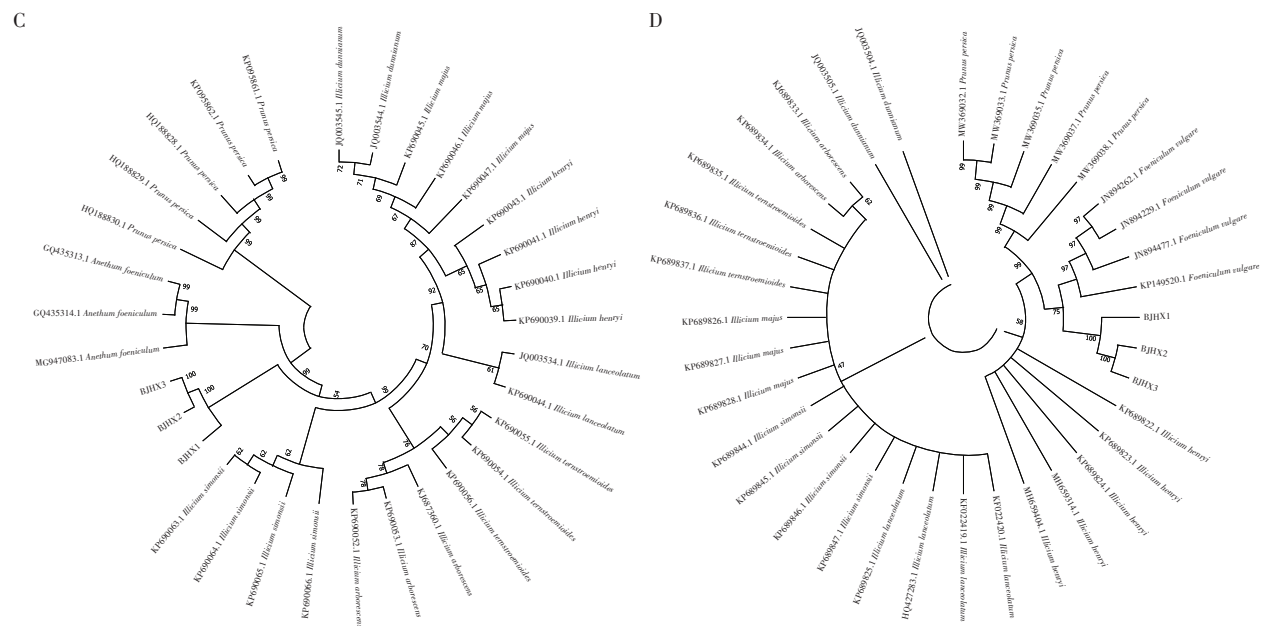
由图 2 可知,在 NJ 进化树中,八角茴香单独聚为

一支;同科属易混品共聚为一大支,厚皮香八角与红花八角聚为一支,这与种间遗传距离相近相一致;大八角、野八角、台湾八角各聚为一小支。在 PNJ 进化树中,八角茴香、大八角各聚为一小支后与野八角共聚为一支;红茴香、红毒茴各聚为一小支后共聚为一大支;红花八角、台湾八角单独聚为一支;厚皮香八角聚为一支。由此可得,ITS2 可以准确鉴别八角茴香与其易混品。如图 2C 所示,八角茴香、野八角、红毒茴、茴香均独立成分支;厚皮香八角、台湾八角聚为一小支后共聚为一大支。如图 2D 所示,八角茴香、茴香独立分支后汇聚为一大分支;红毒茴、野八角、大八角、厚皮香八角、台湾八角共聚为一大支。综上所述,ITS2、psbA-trnH 和 *matK* 序列适用于区别八角茴香与其易混品。

2.4 ITS2 二级结构分析

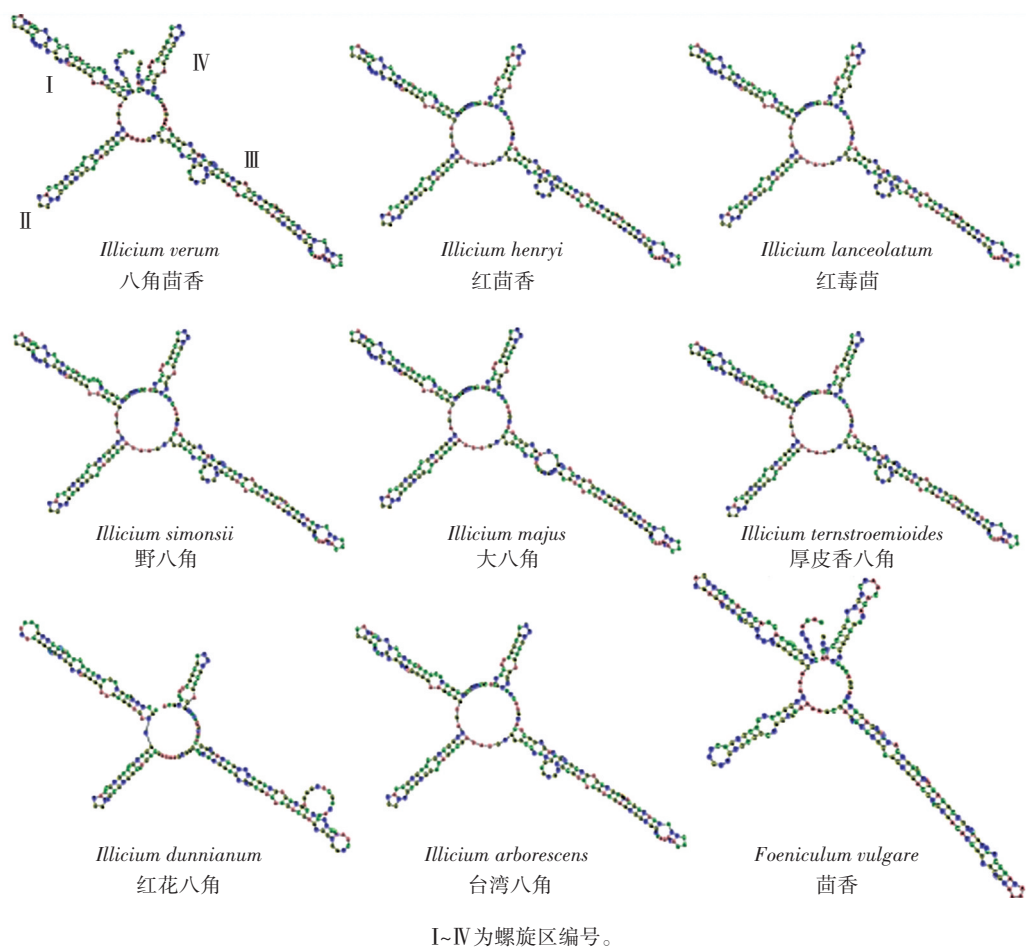
所有分类群的 ITS2 二级结构见图 3。由图 3 可知,所有分类群的 ITS2 二级结构均呈典型的“一环四臂”(1 个中心环和 4 个螺旋区)形态,其





A. 基于 ITS2 序列的 NJ 树;B. 基于 ITS2 序列和二级结构联合矩阵的 PNJ 树;C. 基于 psbA-trnH 序列的 NJ 树;D. 基于 *matK* 序列的 NJ 树。

图 2 八角茴香与其易混品的系统发育树
Fig.2 Phylogenetic trees of *Illicium verum* and its adulterants



I~IV 为螺旋区编号。

图 3 八角茴香与其易混品的 ITS2 二级结构
Fig.3 ITS2 secondary structures of *Illicium verum* and its adulterants

中,臂Ⅲ最长,但同时各种间二级结构均有较大差异,差异主要体现在内环、凸环、自由单链上。臂Ⅰ上内环最多的是八角茴香,除茴香是只有1个内环外,其他都有3个内环。臂Ⅱ上内环最少的是红花八角,除茴香是有1个内环外,其他均有2个内环。臂Ⅲ变异较大,内环数1到6个不等,大八角内环最多,其他大多都有4个内环。臂Ⅳ上内环数1到3个不等,大多均有2个内环。没有凸环的有大八角和茴香。有凸环的,凸环均在臂Ⅲ上,且除红花八角的凸环在臂Ⅲ和臂Ⅳ之间外,其他均在臂Ⅱ和臂Ⅲ之间。只有八角茴香和茴香在臂Ⅰ和臂Ⅳ之间有一段富含嘧啶的单链结构,且茴香的 ITS2 二级结构比八角茴香的整体大。另外,各物种二级结构间的差异还体现在茎环大小、旋臂长度、旋臂间夹角、内环大小及位置等方面。CBC 模型的统计结果显示,八角茴香与红茴香在臂Ⅳ区具有1个hCBC,与红毒茴在臂Ⅱ区具有1个hCBC。综上所述,ITS2 序列的二级结构的分子形态差异可以区分八角茴香与其易混品。

3 讨论与结论

本研究分析比较了 ITS2、psbA-trnH 和 *matK* 条形码对八角茴香及其易混品的遗传距离、系统发育树、二级结构等方面,结果显示这3种DNA条形码均能区分开八角茴香与其易混品,但在八角属同属易混品的区分上,*matK* 条形码并不适用。因此,本研究最终确定 ITS2 和 psbA-trnH 序列为最佳 DNA 条形码,*matK* 序列为辅助条形码,适用于八角茴香及其易混品的 DNA 条形码鉴别研究。

由于八角茴香用途广泛,出口量大,需求高,价格昂贵,其易混品多且便宜,存在较大的安全隐患,因此本研究利用核糖体片段 ITS2 和 2 个叶绿体片段 psbA-trnH、*matK* 对八角茴香及其易混品进行鉴别,为八角茴香及其易混品的准确、客观鉴定提供了新的技术手段,可以实现对八角茴香基原物种、粉末以及细胞、组织等材料来源的准确快速鉴定,可以满足不同行业不同科研背景工作者对八角茴香鉴定的要求。本研究结果在八角茴香中药材流通领域、产企业的原料监管、医院饮片的真伪鉴定、海关进出口鉴定与管理、出入境检验检疫等方面发挥潜在应用价值。本文建议以 ITS2 和 psbA-trnH 为主,*matK* 为辅的分子标记应用于八角茴香与其易混品的鉴别。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第六十六卷[M]. 北京: 科学出版社, 1977.
Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China: Volume 66[M]. Beijing: Science Press, 1977.

- [2] (南宋)杨士瀛原著. 仁斋直指方[M]. 孙玉信, 朱平生, 点校. 上海: 第二军医大学出版社, 2006: 438, 440-446.
(Southern Song Dynasty) Yang Shicheng's original work. Ren Zhai Zhi Zhi Fang[M]. Edited and annotated by Sun Yuxin and Zhu Pingsheng. Shanghai: Second Military Medical University Press, 2006: 438, 440-446.
- [3] (清)赵其光. 本草求真[M]. 影印本. 广州: 广东科技出版社, 2018.
(Qing Dynasty) Zhao Qiguang. Ben Cao Qiu Yuan [M]. Photoprint Edition. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press, 2018.
- [4] (南宋)朱佐. 类编朱氏集验方. 北京: 人民卫生出版社, 1983.
(Southern Song Dynasty) Zhu Zuo. Classified Collection of Proven Formulas by the Zhu Family. Beijing: People's Medical Publishing House, 1983.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
National Pharmacopoeia Commission Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Part 1[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.
- [6] 李琳, 戴铭. 中药八角茴香的文献考证[J]. 中药材, 2023, 46(3): 773-779.
Li Lin, Dai Ming. Textual research on *Illicium verum* L[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2023, 46(3): 773-779.
- [7] 李学团, 郭飞, 叶家义, 等. 不同种源八角茴香叶精油的提取与化学组分分析[J]. 广西林业科学, 2023, 52(4): 509-515.
Li Xuetuan, Guo Fei, Ye Jiayi, et al. Extraction and chemical component analysis of essential oils from *Illicium verum* leaves of different provenances[J]. Guangxi Forestry Science, 2023, 52(4): 509-515.
- [8] 侯振丽, 胡爱林, 石旭柳, 等. 八角茴香的化学成分及生物活性研究进展[J]. 中药材, 2021, 44(8): 2008-2017.
Hou Zhenli, Hu Ailin, Shi Xuli, et al. Research progress on chemical constituents and biological activities of *Illicium verum* L[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2021, 44(8): 2008-2017.
- [9] 郑梦迪, 张春, 马瑞龙, 等. 基于 *matK* 和 ITS2 及二级结构对药材香薷及其混伪品的鉴别研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(17): 2222-2228.
Zheng Mengdi, Zhang Chun, Ma Ruilong, et al. Identification of moslae herba and its adulterants based on *matK*, ITS2 and its secondary structure[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2022, 39(17): 2222-2228.
- [10] 郑梦迪, 贺紫涵, 张春, 等. 基于 ITS2 序列及二级结构对紫苏与其变种、紫苏子与其混伪品的鉴别[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(4): 93-101.
Zheng Mengdi, He Zihan, Zhang Chun, et al. Molecular identification of *Perilla frutescens* and its varieties, perillae fructus and its adulterants based on ITS2 primary sequence and its secondary structure[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(4): 93-101.
- [11] 郑梦迪, 孙咪咪, 贺紫涵, 等. 基于 ITS2 序列及二级结构对易混淆药材牛尾独活、当归、独活和羌活的鉴别研究[J]. 药学报, 2021, 56(8): 2289-2294.
Zheng Mengdi, Sun Mimi, He Zihan, et al. Molecular authentication of the medicinal species of Rhizoma et Radix Heraclei, Radix Angelicae Sinensis, Radix Angelicae Pubescentis and Rhizoma et Radix Notopterygii by integrating ITS2 and its secondary structure[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2021, 56(8): 2289-2294.
- [12] 郑梦迪, 刘静, 张寒, 等. 基于 psbA-trnH 分子标记的鼠曲草属

- 植物鉴定[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(6): 1383-1386.
- ZHENG Mengdi, LIU Jing, ZHANG Han, et al. Identification of *Gnaphalium* Herbs based on psbA - trnH molecular markers[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2020, 31(6): 1383-1386.
- [13] KOETSCHAN C, FÖRSTER F, KELLER A, et al. The ITS2 Database III—sequences and structures for phylogeny[J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38: D275-D279.
- [14] RUHL M W, WOLF M, JENKINS T M. Compensatory base changes illuminate morphologically difficult taxonomy[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2010, 54(2): 664-669.
- [15] CAISOVÁ L, MARIN B, MELKONIAN M. A close-up view on ITS2 evolution and speciation - a case study in the Ulvophyceae (Chlorophyta, Viridiplantae)[J]. BMC Evolutionary Biology, 2011, 11: 262.
- [16] GUTELL R R, LARSEN N, WOESE C R. Lessons from an evolving rRNA: 16S and 23S rRNA structures from a comparative perspective[J]. Microbiological Reviews, 1994, 58(1): 10-26.
- [17] COLEMAN A W. ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons[J]. Trends in Genetics: TIG, 2003, 19(7): 370-375.

加工编辑:刘艳美

收稿日期:2023-09-18

(上接第32页)

- BI Ying, LI Hui, MA Xin, et al. Postharvest chilling injury performance of two varieties of Hami melons and changes in storage quality[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(10): 27-34.
- [25] KRARUP C, TOHÁ J, GONZÁLEZ R. Symptoms and sensitivity to chilling injury of cantaloupe melons during postharvest[J]. Chilean Journal of Agricultural Research, 2009, 69(2): 125-133.
- [26] 毕莹, 王新宇, 李慧, 等. 不同品种哈密瓜果实脯氨酸代谢对低温的响应[J]. 食品科学, 2024, 45(6): 216-224.
- BI Ying, WANG Xinyu, LI Hui, et al. Proline metabolism of different varieties of Hami melon fruits in response to low temperature[J]. Food Science, 2024, 45(6): 216-224.
- [27] 周倩怡, 薄丽萍, 张国莉, 等. 低温胁迫对大蒜生长、活性氧代谢及相关基因表达的影响[J]. 分子植物育种, 2023, 21(18): 6116-6125.
- ZHOU Qianyi, BO Liping, ZHANG Guoli, et al. Effects of low-temperature stress on growth, reactive oxygen metabolism and related gene expression in garlic[J]. molecular plant breeding, 2023, 21(18): 6116-6125.
- [28] 孙萌, 罗志雄, 彭敏, 等. 低温对水稻幼苗根系活性氧代谢及其相关基因表达的影响[J/OL]. 分子植物育种, 1-12[2024-08-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220105.1152.004.html>.
- SUN Meng, LUO Zhixiong, PENG Min, et al. Effect of low temperature on reactive oxygen metabolism and expression of related genes in the root system of rice seedlings[J/OL]. molecular plant breeding: 1-12[2024-08-02]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.2022-0105.1152.004.html>.
- [29] WANG C Y. Approaches to reduce chilling injury of fruits and vegetables[J]. Horticulture Research, 1993, 15: 63-95.
- [30] HERNÁNDEZ M L, PADILLA M N, SICARDO M D, et al. Effect of different environmental stresses on the expression of oleate desaturase genes and fatty acid composition in olive fruit[J]. Phytochemistry, 2011, 72(2/3): 178-187.
- [31] UPCHURCH R G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress[J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(6): 967-977.
- [32] XU M J, DONG J F, ZHANG M, et al. Cold-induced endogenous nitric oxide generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during postharvest storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 65: 5-12.
- [33] 曲凌慧, 车永梅, 侯丽霞, 等. 低温胁迫对葡萄品种梅鹿辄和贝达活性氧代谢的影响[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2010, 27(2): 117-121, 125.
- QU Linghui, CHE Yongmei, HOU Lixia, et al. Effects on ROS metabolism of merlot and beta in two grape varieties under low temperature stress[J]. Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science), 2010, 27(2): 117-121, 125.

责任编辑:张璐

收稿日期:2023-12-15